

ANÁLISE IMUNOLÓGICA DE DESENVOLVIMENTO DE UM NOVO PROTOCOLO PARA OBTENÇÃO DE PLASMA RICO EM FIBRINA (PRF) EM DESLIZE CORONÁRIO ATRAVÉS DE TÉCNICA DO TÚNEL

Amanda Aparecida Rodrigues Martins¹ Marcos de Oliveira Dias² Eduardo Rada Mohamad Saleh³

1. Estudante do curso de Odontologia; e-mail: amanda.martins626@hotmail.com
2. Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: marcosgazu@gmail.com
3. Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: eduardo.rada49@yahoo.com.br

Área do Conhecimento: Biomateriais e Materiais Biocompatíveis;

Palavras-chave: Plasma rico em fibrina. Enxertos. Imunologia.

INTRODUÇÃO

A utilização de enxertos de Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e Plasma Rico em Fibrina (PRF) promovem aceleração da cicatrização e regeneração óssea, resultantes de procedimentos cirúrgicos. O PRP é obtido através da centrifugação do sangue. O PRF é um subproduto do plasma rico em plaquetas (CARNEY et al., 2012). Nas últimas décadas a engenharia tecidual envolvendo materiais biocompatíveis vem ganhando espaço no mercado médico e odontológico, e o estudo de materiais enriquecidos com plaquetas apresentam resultados altamente satisfatórios, sobretudo a Fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF), fonte autolocadora de citocinas e fatores de crescimento capazes de favorecer a regeneração tecidual (CHOUKROUN et al., 2006). Enxertos de matriz dérmica acelular, derivada de humanos e animais, e materiais que utilizam fatores de crescimento responsáveis por induzir gênese de tecidos têm sido sugeridas com grande potencial para substituir os enxertos autógenos, porém o alto custo destes produtos ainda é um grande obstáculo para sua utilização, fazendo com que a busca de soluções mais baratas e eficientes seja constante (CARNEY et al., 2012). Desde então o PRF vêm sendo utilizado em vários tipos diferentes de procedimentos de enxertia, como preenchimento de alvéolos pós exodontia, levantamento de seio maxilar, como membranas de proteção de enxertos ósseos e também como substituto aos enxertos de tecido conjuntivo nos procedimentos de deslize coronário (TATULLO et al., 2012). Dentre tantos estudos publicados, especialmente nos últimos anos com o aumento da necessidade de métodos de enxertia para qualificar o processo de reparação, o PRF mostra-se com alto potencial, porém, ainda necessita de estudos mais aprofundados para que seja comprovada sua eficácia, e a busca por um novo protocolo, pode trazer mais de seus benefícios à tona. Esta pesquisa teve por objetivo avaliar um novo protocolo de obtenção de PRF e seu potencial bactericida sob placa de cultura de bactérias, e a comparação deste novo método em relação ao método padrão de obtenção de plasma rico em fibrina.

OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo a comparação de dois protocolos de obtenção de plasma rico em fibrina, sendo um deles o protocolo *Choukroun* (responsável pela criação da técnica de obtenção de PRF) e o novo protocolo alvo do estudo, seu potencial bacteriostático em cultura de bactérias, avaliando-se pelo método visual, e a aplicabilidade do novo método para utilização em odontologia.

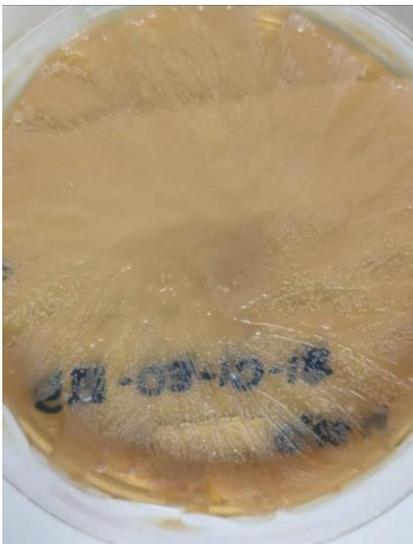
METODOLOGIA

Este trabalho passou por aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC) com número de parecer 1.379.738, sendo que o mesmo se baseia em otimização de outro trabalho de avaliação clínica. Foi colhido em torno de 10 ml de sangue do doador para cada tubo, sendo utilizado três tubos para cada avaliação, um para produção do PRF sólido condensado na técnica original, centrifugado em tubo de ensaio de vidro a 3000 rpm por 10 minutos, e outro para a produção do novo protocolo utilizando PRF líquido polimerizado com PRF sólido cortado em pequenas partes. Centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos para PRF sólido e 3 minutos para o PRF líquido, em tubo de ensaio de plástico, sem adição de anticoagulante. Foram utilizadas placa de Petri com cultura de bactérias semeadas previamente, utilizando osso bovino colhido através de deslize coronário em técnica do túnel. No primeiro grupo foi utilizado o PRF sólido condensado no centro da placa e no segundo grupo foi utilizado o novo protocolo: PRF sólido particulado polimerizado com PRF líquido. Ambos os agregados foram depositados sob as duas placas de cultura (as duas foram semeadas ao mesmo tempo e com mesmo tipo de bactérias). Foi aguardado o período de 2 dias para avaliação dos resultados iniciais pelo método visual.

RESULTADOS/DISCUSSÃO

Avaliando a eficácia de cada método de obtenção de plasma rico em fibrina (PRF) pelo método visual, foi possível observar a mortalidade da cultura de bactérias, onde o agregado foi depositado para ambos os métodos. Porém no método que está sendo desenvolvido, pôde-se observar maior eficácia sobre a placa, com diferenças discrepantes entre o padrão promovido por cada um. A seguir, imagens dos resultados obtidos após dois dias para avaliação.

Fotografia nº1 – Protocolo Padrão



Fotografia nº2 – Protocolo de Estudo



Na fotografia 1, protocolo padrão utilizado para a comparação do protocolo alvo de estudo. No centro da placa foi depositado o agregado, e após dois dias foi observado estrias em forma de “raios de sol”, característica de lise de bactérias, próximo a área de depósito. Na fotografia 2, protocolo alvo de estudo. No centro da placa foi depositado o agregado, e após dois dias, foi observado estrias em forma de “raios de sol”, do mesmo modo encontrado na outra placa, porém, os mesmos se estendendo até próximo da borda da placa, com maior uniformidade e quantidade, demonstrando maior evasão de eficácia sobre a cultura de bactérias. Em meio aos estudos que focaram na busca por novos tipos de materiais de

enxertia, pode se encontrar quatro famílias principais nos agregados plaquetários, sendo o Plasma Rico em Plaquetas (P-PRP), o Plasma Rico em Plaquetas e Leucócitos (L-PRP), a Fibrina Rica em Plaquetas e Pobre em Leucócitos (P-PRF) e por último mas não menos importante a Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos (L-PRF) (KOBAYASHI, 2012). Logo, o estudo de biomateriais relacionado a enxertos hematopoiéticos levou ao desenvolvimento do Plasma Rico em Fibrina. O plasma rico em fibrina (PRF) faz parte da segunda geração de agregados plaquetários, sendo um subproduto do plasma rico em plaquetas (PRP). É obtido a partir da centrifugação do sangue do paciente que receberá o enxerto, sem adição de anticoagulantes como a heparina (TATULLO, 2012). Este tipo de enxerto apresenta capacidade de promover angiogênese, proliferação celular e migração das células específicas do agregado até áreas que necessitem de reparação, isso em tecidos moles e até estimulação de crescimento ósseo, além de contribuir no controle do processo inflamatório (KOBAYASHI, 2012).

CONCLUSÕES

Agregados plaquetários ganharam espaço e visibilidade em meio ao desenvolvimento de métodos que contribuam para regeneração tecidual. Sendo de origem autógena, encaixa-se no grupo padrão ouro de enxertos, e como é obtido a partir do sangue do próprio paciente, aceleram a recuperação em procedimentos cirúrgicos sem trazer grandes riscos e efeitos colaterais. O plasma rico em plaquetas (PRP) foi o precursor deste tipo de enxerto, e é amplamente utilizado em odontologia por seus benefícios, graças à concentração de plaquetas que libera fatores de crescimento, responsável pela ação sobre células osteoprogenitoras. Posteriormente, o plasma rico em fibrina (PRF) foi desenvolvido como otimização do PRP, classificado como segunda geração dos agregados plaquetários, para intensificar o aceleração da reparação de tecidos ósseos e moles a partir de sua alta concentração de fatores de crescimento que estimulam a chegada dos hematócritos específicos. O plasma rico em fibrina atua em quatro fases fundamentais do processo de reparação, sendo eles a angiogênese, o controle imunológico, liberação de fatores de crescimento e recrutamento de células mesenquimais indiferenciadas, sendo assim, atua de maneira a contribuir na reparação e na sinalização para as células necessárias neste processo. Os métodos utilizados até o presente momento, demonstraram eficácia sobre o tratamento de lesões ósseas e de tecido mole, porém, estudos realizados a partir de cada um deles, deixaram espaço para o desenvolvimento de protocolos que apresentem melhores resultados. Além de seu potencial regenerador e osteoformador, a partir dos estudos feitos nesta pesquisa, o PRF apresentou também potencial bactericida, que pode ser fator determinante no sucesso de procedimentos cirúrgicos, evitando processos infecciosos na região lesada. É sabido ainda que o PRF apresenta benefícios como maior taxa de sucesso em técnicas com enxerto ósseo, diminuição do quadro de dor no pós-operatório, acelera o processo de osseointegração, diminui a chance de alveolite e outras patologias ósseas, além do aumento no aporte sanguíneo no alvéolo pós exodontia. Os resultados deste trabalho apresentaram de maneira clara o potencial bactericida que o enxerto apresenta, além, do novo método de produção demonstrar potencial ainda maior em relação ao protocolo Choukroun. Houve diferenças nos resultados, onde o novo protocolo apresentou maior eficácia, com padrão mais acentuado e prolongado na placa de Petri. Foi possível observar estrias esbranquiçadas, comuns em lise de bactérias sob a colônia, que alcançava a borda da placa, diferente do protocolo padrão utilizado para comparação laboratorial. Como o PRF é rico em leucócitos, e o protocolo alvo de estudo deteriora menos células por sua variação de produção, é esperado um número maior de células imunes presentes no enxerto, e isso correspondeu a um maior número de destruição bacteriana nas placas, graças a alta quantidade de leucócitos polimorfonucleares, da série dos neutrófilos, que são responsáveis por combater e agir sob fungos e bactérias. Tendo alta aplicabilidade, o PRF apresenta resultados satisfatórios a curto prazo, corroborando para o interesse no desenvolvimento do

novo protocolo que foi alvo de estudo neste trabalho. Sua aplicabilidade maxilo facial em inúmeros procedimentos cirúrgicos-curativos, apresenta comprovada seguridade para o paciente, além de não oferecer efeitos adversos aos tratamentos em geral.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Raymara C., et al. **A aplicabilidade da membrana de fibrina rica em plaquetas e leucócitos (L-PRF) na odontologia: uma revisão de literatura. Jornada odontológica dos acadêmicos da católica – JOAC**, v. 2, n. 2. 2016.

CARNEY, Christopher M., et al. **A comparative study of root defect coverage using an acellular dermal matrix with and without a recombinant human platelet-derived growth factor.** Journal periodontology, v.83, p.893-901. 2012.

CHANG, Yu-Chao; WU, Kuo-Chin; ZHAO, Jiing-Huei. **Clinical application of platelet-rich fibrin as the sole grafting material in periodontal intrabony defects.** Journal of Dental Sciences., ed. 6, p. 181-188. 2011.

CHOUKROUN, J.; DISS, A.; SIMONPIERI, A.; GIRARD, M.O.; SCHOEFFLER, C.; DOHAN, S. L.; DOHAN, A.J.; MOUHYI, J.; DOHAN, D. M. **Platelet-rich fibrin (PRF): Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate: Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift.** Oral Surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology and endodontics. 2006, vol. 101, ed. 3, p. 299-303.

LORENZI, Terezinha F. **Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica.** 4ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap. 1 e 2, p. 1 – 144.

TATULLO M., et al. **Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in reconstructive surgery of atrophied maxillary bones: clinical and histological evaluations.** International Journal of Medical Sciences, ed. 9, vol. 10, p. 872-880. 2012.

THIBODEAU, Gary A; PATTON, Kevin T. **Estrutura e funções do corpo humano.** 1ª Ed. Brasil: Manole, 2002. cap. 10, p. 254-256.

WILSON, Elisabete M. K.; BARBIERI, Claudio H.; MAZZER, Nilton. **Estimulação da cicatrização óssea pelo plasma autógeno rico em plaquetas: estudo experimental em coelhos.** Acta Ortopédica Brasileira, São Paulo (cidade), vol. 14, n. 4. 2006.